GE Healthcare

ImageQuant[™] TL 8.1

Image Analysis Software





GE ImageQuant TL 8.1 冷螢光影像分析軟體

Image Analysis Software

中文操作手册

1D Gel Analysis 一維電泳影像分析

1. 開啟軟體

於桌面點選 , 開啟 ImageQuant TL 影像分析軟體, 選取一維電泳分析模式(1D gel analysis)。

[ImageQu	ant TL Control Centre
Imag	geQuant TL
	<u>1D gel analysis</u> Analyze a 1D electrophoresis gel image
9	Analysis Toolbox Analyze a dot/slot blot, microtiter plate or macroarray
0	Colony Counting Count colonies or detect 2D electrophoresis spots
	Array analysis Analyze an image using area and profile-based tools
0	Online Help Look up queries in the comprehensive reference guide
(ge)	Also contained in this installation: FluorSep
	IQ Tools

應用模式



1D gel analysis Colony Counting Array analysis

Analysis Toolbox Online Help

一維電泳影像分析

菌落分析或 2D 影像分析 陣列分析

分析工具(編輯,旋轉,裁切影像) 線上援助

2. 進入檔案選取畫面

ImageQuant TL 軟體可分析 8 或 16 bit 灰階 Tiff 圖形檔。

Open	?	
Look in: 🔄 Images	- 🗧 📸 🖬 -	
Id_Basic.tif Colony_Petri. Id_MWPI.TIF Colony_Spots Id_norm.tif Colony_Spots Id_Tiers.tif Array_Blot.tif Array_Microtitre.tif	tif s. tif	
File name: Files of type: All ImageQuant TL image	Open e files (*.tif;*.tiff;*.gel; 🗨 Cancel	
Analyse this image using:	Preview	
for analysis of many types of 1D electrophoresis gel.	Preview not available	ImageQuant TL 可分析的檔案 格式: *.tif, *.tiff, *.gel, *.ds

3. 選取並開啟要分析的影像檔 (tif、gel)

)pen				?	×
Look in: 🔯 In	nages	•	+ 🗈 💣	· ·	
Channel.DIF 1d_Basic.tif 1d_MWPI.TIF 1d_norm.tif 1d_Tiers.tif 2channel.ds	Array_Blo Array_Mic Colony_Pi Colony_S	t.tif :rotitre.tif etri.tif pots.tif			
File name: 1	d_Basic.tif All ImageQuantTL ima	ne files (*.tif;*.tiff;*.g	gel;×	Open Cancel	
Analyse this imag	ge using: 🛛 🔽	Proview			
for analysis of ma electrophoresis g	any types of 1D jel.			可預	遭選取的檔案

3.1 軟體介面



3.2 分析流程

自動 (Automatic) 分析模式或手動 (Stepwise) 分析模式。 自動分析: 立即顯示分析結果。 分析模式: 依提示一步步分析 data。



4. 分析方法

4.1 自動分析 (Automatic)

點選 Automatic ^{Automatic} 分析模式, 立即顯示分析結果。若結果預覽不如預期, 可依左方的提示步驟進一步編輯 data。



4.2 手動分析 (Stepwise)

點選 Stepwise 分析模式,進入分析流程,依提示一步步分析 data。

(4.2.1) Lane Creation 設定電泳條帶

(I) Automatic 自動偵測 Lane 的數目及位置



(II) Manual 手動設定

(a) Lane 的數目設定



(II) Manual 手動設定

正在編輯修改的 Lane, 數字

- 呈現為綠色 (b) Single Lane 的编辑 Analysis Window Lane Creation Export Print Preview Annotate Contrast Colour Options Edit Image Single* Oversity Channell X. Clear 11 🛛 🖉 🦑 Background Select edit mode • Edit Single Lane: Bend / Resiz Band Detection This lane has no profile ÷., ⇒ Next Molecular Size Half lane widt Q (44 15 🛨 pixels Apply 5 This lane has no profile × Delete Current Lane 相對定量 J. 19-曲的 Lane No measurements to display Data Export Instructions A Par - = ! ----Selected Lane (All Lanes (Com ▲ 開啟 Select Edit model 下拉式選單選擇 Edit Multiple Lanes 或 是 Edit Single Lane X Accept Single Lane 進階編輯功能 Clear Select edit mode: 5.1 Bend/Resize: 修改 Lane Box 的寬度 Edit Single Lanes -→游標點選 Lane 上方數字框, 被選擇的 Lane 數字為綠色 🎹 Bend / Resize D. →滑鼠移至被選擇的 Lane 上、下端紅色邊框,利用雙箭頭(++)游標 + Move 調整寬度 9.0 Add Grimaces 5.2 Bend/Resize: 編輯彎曲的 Lane . The whole image → 滑鼠靠近要編輯的 Lane, 出現十字(---)游標 ⇒ →點擊十字(--)游標出現白色錨點(圓) Next Previous →拉動(÷)錨點即可任意扭曲 Lane Box (右鍵取消錨點) Half lane width 15 🕂 pixels Apply 5.3 Move: 移動 Lane ₽ →游標移到選擇的 Lane 上, 待出現十字箭頭(↔)游標 🗙 Delete Current Lane →按住游標拖曳 Lane Box 到任何位置 5.4 Add Grimaces: 適用於變形的 Band (微笑曲線) ۹., Р →游標點擊彎曲的 Band, 出現紅色雙錨點(右鍵取消錨點) →按滑鼠左鍵增加白色錨點(圓) Instructions Parameters
 - 金萬林企業股份有限公司 KIM FOREST ENTERPRISE CO.,LTD.

(4.2.2) Background Subtraction 去除背景

被選擇的 Lane, 數字呈現為綠色



不扣除背景,功能與按 Clear 相同 💦

(4.2.3) Band Detection 電泳條帶偵測

被選擇的 Lane, 數字呈現為綠色



(4.2.3) Band Detection 電泳條帶偵測

Peak Detection:	Edge parameters:
Noise reduction 5 📑	Automatic detection
% Max. <u>P</u> eak 3 📑	🗸 🤉 🖓 Fixed width 🛛 🛨

參數設定

🤰 Peak Detection 訊號高峰判讀

→ Noise reduction 减低干擾訊號

針對一些 small peak 應該予與忽略以減少 noise 的干擾, 定義 Noise 和 Band 表現度的差異, 數值範圍為: 0~20。數值設的越大, 較微弱的 Band 就會被忽略, 偵測到的 Peak 數目越少。



Noise reduction 數值設的小,就會被偵測 到較微弱的 Band。上圖偵測到 4 個 Peak。

Noise reduction: 15



Band 就會被忽略。上圖偵測到 3 個 Peak。

→% Max. Peak 與最強訊號的相對關係

量測每一個 Band 與最強訊號之間的相對關係,數值範圍為: 0~100。 以最強的 Peak 為 100%,數值設定的越大,相對而言偵測到的 Peak 數目越少。

% Max. Peak: 3



% Max. Peak 數值設小, 可偵測到較多 Band。

% Max. Peak: 50



% Max. Peak: 50, 偵測到前 50%強的 Band。

% Max. Peak: 99



% Max. Peak: 99, 只偵測最強的 Band。



參數設定

- 3 Edge parameters 電泳條帶的區域設定
 - → Automatic detection: 自動偵測 Band Edge 的範圍 建議使用自動偵測,軟體自動定義合適的 Band Edge。
 - → Fixed width: 固定 Band Edge 的範圍 自己設定固定的 Band Width,每一條 Band 偵測的區域寬度都相同。





Fixed width

軟體自動定義合適的 Band Edge。

固定的 Band Width,每一條 Band 偵 測的區域寬度都相同。

4 Band and Edge 編輯: 在 Image Window and Analysis Window 進行

4.1 增加 Band/Edge

- → 游標移到 Image Window <u>要增加的 Band 上</u>或將游標移到 Analysis Window 的 <u>Peak 上</u>
- → 待出現筆型游標 🏹)→ 按左鍵即增加一個 Band Edge



4 Band and Edge 編輯: 在 Image Window and Analysis Window 進行
 4.2 刪除 Band/Edge

- → 游標移到 Image Window 要刪除的 <u>Band 中央藍色菱形符號上</u>或將游標移到 Analysis Window 的 <u>Peak 中央</u>
- → 待出現<u>白色箭頭游標</u> 🌔) → <u>按右鍵</u>即刪除一個 Band Edge



4.3 移動 Band Edge 的範圍:如果覺得 Band Edge 太寬或太窄,可以修改 Edge 的範圍
→ 游標移到 Image Window 要的修改的 Band Edge 上、下端的紅線或將游標移到 Analysis Window 的 Peak 左、右端的虛線上

→ 待出現<u>雙箭頭游標</u> ((↔))→ <u>拉曳紅線或虛線</u>即可修改 Band Edge 的範圍





(4.2.4) Molecular Size Calibration 定分子量: 選擇軟體內建的 Marker

★ ▲ 萬林企業股份有限公司 KIM FOREST ENTERPRISE CO.,LTD.

X Clear 在偵測影像的分子量或 PI 之前, 必須先建立可供比對的 Reference。 Compute 可以從資料庫中選取已內建的 standard 或是自行建立新的 Standard。 🤈 Create new standard 自訂 Marker (a) 在 Parameters Tab 頁面, 按 Edit 開始建立新的 Standard 程序 → Edit Standard 視窗出現 Standard: 123-lad (b) 在Edit Standard 視窗, 按 Edit/create Standard Button (选)建立 新的 Standard Next Previous → 軟體出現 New Standard 字樣 New Standard Edit Standard 123-lad 自訂Marker → 按 Rename Button (A) 或按右鍵選 Rename 功能, 重新命名 3690 (c) 選擇 Mapping Unit (Molecular Weight、pI、Base Pairs、Bases) 3567 3444 3321 (d) 建立 Mapping List Y → 按 <u>Add new mapping</u> Button 🛅)或滑鼠雙點擊 Mapping List Curve Type Cubic Spline Curve -最後一項的"..."符號,即可新增數值 ✓ Use Rf to propagate → 選擇數值, 按 Delete the current mapping (×), 即可<u>刪除數值</u> Instructions A Parameters (e) 完成 Standard 的编輯修改, 按 Done **Edit New Standard (a**) (b Edit Standard Edit Standard X * 🐹 вV-вмн Mapping Units ٨ 🔼 DRigest III BV-BML Molecular Weight + 🖾 Lambda-Hind III CANDIDA 🔯 Phi X174-Hinc II Mappings List 🖾 Phi X174-Hae III LAM-EH Lambda-pfge 🐹 DNA-pfge 🔀 1 Kb Ladder 🐼 250 Bp Ladder SACCHARR SCHIZO Marker 2 Edit/create 100 Bp Ladder 50 Bp Ladder Marker 1 Standard 🔯 8-32 Bp Oligo. sizing XX 0 16-1 77 Kb RNA 1 × -Y Done 3 DAX 3 🗅 A 🗙 Done 選擇單位 建立 **Mapping Unit** Mapping List Mappings List Edit/create Standard Mapping Units 66000 Molecular Weight 建立數值 43000 **Duplicate the current Standard** Molecular Weighl 20100 Molecular Weight(kd) pl (Ascending) Rename the current Standard pl (Descending) **Base Pairs** Base Pairs(kb) 🗙 Delete the current Standard 10 × Bases Bases(kb)

Add new mapping

Molecular Size/PI Reference 分子量 or pl 参考值設定

(4.2.4) Molecular Size Calibration 定分子量:新增/自訂 Marker



Delete the current mapping

(4.2.5) 相對定量

ImageQuant TL 影像分析軟體提供兩種相對定量的方式, 請擇一使用。

- (I) Quantity Calibration:已知各個標準品濃度,求相對定量 手動輸入已知的多個 Band 濃度,藉由軟體分析偵測所有 Band 的相對濃度。
- (II) 🛄 Normalization:已知樣本總量,求相對定量
 - (1) 手動輸入已知的樣本總量或平均值, 藉由軟體分析偵測所有 Band 的相對濃度。
 - (2) 若不知樣本的實際濃度,可以任選一條 Band, 設定為 100, 計算出其他 Bands 相較於被選定的那條 Band 的百分比。



(4.2.5) 相對定量

(I) Quantity Calibration 已知標準品濃度, 求相對定量



(milligram, microgram, nanogram, picogram, femtogram, attogram, nanomole, picomole, femtomole, and attomole)

(4.2.5) 相對定量

(II) Normalization 已知樣本總量,求相對定量





估算所有 Band 相對濃度

→ 按 Normalise

Normalised to: b1L1,b2L1,b3L1,b4L

nanogram

The normalised volume is

When normalising to a group of bands, normalise to:

their average volume

· their collective volum

Instructions A Parameters

下拉式選單:

選擇濃度單位

100

Next

完成 Molecular Size Calibration→ 按下 Next → 按下 Next (跳 過 Quantity Calibration)進入 Normalisation 步驟 →設定参考值 (Band Volume) → 按下 Normalise 按鈕 🛄 ,偵測所有 Band 的相對濃度

※ 清除設定按 Clear X

Normalisation 相對定量

在這個模式下: (1) 可輸入已知的多個 Bands 的總量或平均值 (collective volume or average volume); (2) 若不知 Band 的實際濃度, 可以任選一條 Band, 設定為 100, 計算出其他 Bands 相較於此 Band 的百分比。

1 鍵入已知的 Bands 濃度

- (a) 在 Image Window 按滑鼠左鍵點選已知濃度的數個 Bands
 (被選取的 Bands: Band 中央的藍色菱形符號會轉變為黃色)
- (b) <u>從 Parameters Tab 鍵入 Bands 的濃度和單位</u> The normalised volume is
- (c) 從 Parameters Tab
 選擇 collective volume or average volume
 → Parameters Tab 及數據分析視窗會出現濃度(Norm Vol)
- (d) 按 Normalise 🛄 估算所有 Bands 的濃度

(milligram, microgram, nanogram, picogram, femtogram, attogram, nanomole, picomole, femtomole, and attomole)

5. 資料輸出

點選欲 Export 的視窗 →點選 Edit 的 Copy to Clipboard →直接貼於 Excel 上;或 Export to Excel

ImageQuant TL 1D v8.1 - 20120907_1225_3.tif		
jile <mark>Edit View Analysis Reports Wind</mark> ow <u>H</u> elp		dow Help
0	Copy to Clip <u>b</u> oard Export to <u>F</u> ile Export to E <u>x</u> cel	Annotate Contrast Colour Options Edit Image Single Overlay Channel1 Channel2 Channel3 Christian
	Export Lane Objects Import Lane Objects	mage Window [Zoomed to fit] Image Window [Zoomed to fit] 1:1 Image Window [Zoomed to fit]
	Export <u>L</u> ane Profile to Clipboard Export L <u>a</u> ne Profile to File	
	Lane <u>S</u> election	
	Edit Image	
	Calibration	
	Quantity Calibration	
	Normalisation	
	Co - Restart	

- 6. Marker 與冷光影像疊圖
 - (a) 點選 File → Create Multiplex I mage
 - (b) 輸入檔案名稱
 - (c) 點選 Browse → 選擇需疊圖影像 → 點選 Create

	Create Multiplex Image
	(b) 1. What do you want to call the new multiplex image? Name
F	2. Select up to 4 image files to make up the multiplex image Browse
	(C)
	Notes: a) Images must be in the same folder b) Images must already be aligned and the same size
	3. Your multiplex image file will be created in the image folder Create Create

🔯 ImageQuant TL 1D v8.1 - 1.ds <u>File Edit View Analysis Reports Window Help</u> (d) Preview Overlay Open Ъ Print _____ Contrast 🍪 Colour Options Edit Image 1 Channel1 2 Channel2 \bigcirc 4 3 Copy Annotate Single 🖀 Lane Image Window [Zoomed to fit] 🗾 🖉 Lane Creation 🔍 1=1 🛃 🚇 🖑 ۹ 🛃 Background Subtraction 👯 Band Detection Molecular Size Calibration ۵ **F** Quantity Calibration Normalisation C Restart Display Profiles: Only profiles for the current lane can be displayed in overlay

(d) 點選 Overlay → 點選 Channel1 和 Channel 2 即可產生疊圖

金萬林企業股份有限公司
聯絡電話: (02) 2790-2222
服務專線: 0800-009-695
網址: <u>www.kimforest.com</u>
E-mail: <u>kimforest@gmail.com</u>
聯絡地址:台北市內湖區新湖二路 128 號 4 樓之 1